



PENGARUH EKSTRAK DAUN ANDONG (*CORDYLINE FRUTICOSA*) DALAM MENGHAMBAT PERTUMBUHAN BAKTERI *AGGREGATIBACTER ACTINOMYCETEMCOMITANS* SECARA *IN VITRO*

SKRIPSI
Untuk Memenuhi Persyaratan Memperoleh
Gelar Sarjana Kedokteran Gigi

Oleh:
SAKINAH AZZAHRA ADAM
145070400111010

PROGRAM STUDI SARJANA KEDOKTERAN GIGI
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2018

HALAMAN PENGESAHAN

SKRIPSI

PENGARUH EKSTRAK DAUN ANDONG (*CORDYLINE FRUTICOSA*) DALAM MENGHAMBAT PERTUMBUHAN BAKTERI AGGREGATIBACTER ACTINOMYCETEMCOMITANS SECARA *IN VITRO*

Oleh:

Sakinah Azzahra Adam

NIM. 145070400111010

Pembimbing

Pembimbing I

Pembimbing II

drg. Rudhanton, Sp. Perio

NIP. 2008086311081001

drg. Fredy Mardiyantoro, Sp. BM

NIP. 2012088303181001

Malang,
Mengetahui,

Ketua program studi Pendidikan dokter gigi
Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya

drg. Yuliana Ratna Kumala, Sp. KG

NIP. 198004092008122004

PERNYATAAN ORISINALITAS SKRIPSI

Saya menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa sepanjang pengetahuan saya, di dalam naskah skripsi ini tidak terdapat karya ilmiah yang pernah diajukan oleh orang lain untuk memperoleh gelar akademik di suatu perguruan tinggi, dan tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis dalam naskah ini dan disebutkan dalam sumber kutipan dan daftar pustaka.

Apabila ternyata di dalam naskah skripsi ini dapat dibuktikan terdapat unsur-unsur plagiasi, saya bersedia skripsi ini digugurkan dan gelar akademik yang telah saya peroleh SARJANA dibatalkan, serta diproses sesuai dengan peraturan perundang-undangan yang berlaku (UU No. 20 Tahun 2003, Pasal 25 ayat 2 dan Pasal 70).

Malang, 29 Agustus 2018

Yang Menyatakan,

Sakinah Azzahra Adam

145070400111010

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah SWT karena berkat rahmat, hidayah, dan karunia-Nya yang tak terhingga sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Pengaruh Ekstrak Daun Andong (*Cordyline Fruticosa*) dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Aggregatibacter Actinomycetemcomitans* secara *In Vitro*”.

Begitu banyak dukungan dan perhatian yang penulis dapatkan selama penyusunan skripsi ini berlangsung sehingga hambatan dan kesukaran dalam penyusunan dapat dilalui. Oleh karena itu pada kesempatan ini penulis ingin mengucapkan rasa terimakasih dan penghargaan sebesar-besarnya kepada:

1. drg. Setyohadi, MS, selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya.
2. drg. Kartika Andari Wulan, Sp.Pros, selaku Ketua Program Studi Pendidikan Dokter Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya.
3. drg. Rudhanton, Sp.Perio, sebagai pembimbing pertama yang telah memberikan bimbingan, masukan dan semangat sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan skripsi ini.
4. drg. Fredy Mardiyantoro, Sp.BM, sebagai pembimbing kedua yang telah memberikan bimbingan, masukan dan semangat sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan skripsi ini.
5. drg. Viranda Sutanti, M.Si sebagai penguji ujian skripsi yang memberikan masukan untuk menyempurnakan naskah skripsi.
6. Tim Pengelola Skripsi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya, khususnya drg. Dena Fuadiyah, M.Si.
7. Secara khusus penghargaan, rasa hormat, dan terimakasih yang tak terhingga kepada ayah Helmi Adam Nento dan bunda Sri Endnag Yamin tercinta atas segala doa, perhatian, dukungan baik secara moril dan materil yang selalu diberikan untuk penulis.

8. Sahabat-sahabat terbaik, Shabrina, Esti, Dewi, Azimah, Isna, dan Anifa yang selalu mendoakan, mendampingi, mendukung dan membantu banyak hal bagi penulis hingga penyelesaian skripsi ini berjalan dengan lancar.
9. Sahabat seperjuangan dalam berorganisasi, BPI EM UB 2018 (Ojan, Yudis, Azis, Heri, dan Imah), BPH EM UB 2018, DPM FKG UB 2017 (Isna, Anifa, Astri, dan Agil) yang tiada henti menyemangati. Semoga kita bisa menyelesaikan segala amanah-amanah kita.
10. Teman-teman IAICG, Metamorf, HPMIG, “Pejuang Skripsi GTO” (Ummi, Eko, Fahri) yang selalu menemani, menyemangati, dan mengingatkan. Semoga semuanya segera lulus juga. 😊
11. Teman-teman FKG UB angkatan 2014 yang sangat super sekali dan seluruh keluarga besar FKG UB beserta seluruh pihak terkait yang tidak bisa penulis sebutkan satu per satu yang juga ikut serta mendoakan, mendukung dan membantu kelancaran penyusunan proposal tugas akhir ini.

Penulis menyadari bahwa penulisan skripsi ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu, kritik dan saran yang bersifat membangun dari para pembaca sangat penulis harapkan demi kesempurnaan penulisan ini. Penulis berharap semoga tulisan ini dapat bermanfaat baik bagi penulis maupun bagi pembacanya.

Malang, 31 Mei 2018

Penulis,

Sakinah Azzahra Adam

ABSTRAK

Sakinah Azzahra Adam, 145070400111010. **Pengaruh Ekstrak Daun Andong (*Cordyline fruticosa*) dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* secara *In Vitro***. Skripsi. Program Studi Sarjana Kedokteran Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya. Pembimbing: (1) drg. Rudhanton, Sp.Perio (2) drg. Fredy Mardiyantoro, Sp.BM.

Penyakit periodontal merupakan penyakit dalam rongga mulut yang diderita oleh hampir semua manusia di dunia dan mencapai 50% dari jumlah populasi orang dewasa. Salah satu faktor penting yang menyebabkan penyakit periodontal adalah bakteri patogen *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. Andong (*Cordyline fruticosa*) adalah tanaman hias yang jumlahnya sangat melimpah di Indonesia dan sejak dulu digunakan sebagai ramuan herbal dalam menghentikan perdarahan. Daun Andong (*Cordyline fruticosa*) mengandung banyak senyawa aktif diantaranya saponin, tanin, flavonoid, polifenol, steroida, polisakarida, kalsium oksalat, dan zat besi. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh ekstrak daun andong (*Cordyline fruticosa*) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* secara *in vitro*. Penelitian ini dilakukan dengan rancangan *true experimental design post test control only*. Terdapat 7 kelompok perlakuan yang terdiri ekstrak daun andong (*Cordyline fruticosa*) dengan konsentrasi 6,25%, 12,5%, 25%, 50%, 100%, kontrol negatif dengan menggunakan akuades steril, dan kontrol positif dengan menggunakan klorheksidin glukonat 0,2%. Berdasarkan uji statistik *one way Anova* ($p < 0,05$), didapatkan perbedaan bermakna antara zona hambat bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* pada setiap kelompok perlakuan. Selanjutnya, dari uji korelasi *Pearson* didapatkan adanya hubungan yang sangat erat dan berbanding lurus antara besarnya konsentrasi dengan diameter zona hambat bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. Dari penelitian ini dapat disimpulkan adanya pengaruh ekstrak daun Andong (*Cordyline fruticosa*) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* secara *in vitro*.

Kata Kunci : Ekstrak daun andong (*Cordyline fruticosa*), Kadar Hambat Minimum, Bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*



ABSTRACT

Sakinah Azzahra Adam, 145070400111010. **Effect of Andong (*Cordyline fruticosa*) Leaves Extract in Inhibiting Growth of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* Bacteria *In Vitro***. Essay. School of Dentistry, Dentistry Faculty, Brawijaya University. Counselors: (1) drg. Rudhanton, Sp.Perio (2) drg. Fredy Mardiyantoro, Sp.BM.

Periodontal disease is a disease in the oral cavity suffered by almost all humans in the world and reaches 50% of the adult population. One important factor that causes periodontal disease is the bacterial pathogen *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. Andong (*Cordyline fruticosa*) is an abundant ornamental plant in Indonesia and has been used as an herb in stopping bleeding. The Andong (*Cordyline fruticosa*) leaves contain many active compounds such as saponins, tannins, flavonoids, polyphenols, steroids, polysaccharides, calcium oxalate, and iron. The purpose of this study was to determine the effect of andong (*Cordyline fruticosa*) leaves extract in inhibiting growth of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* bacteria *in vitro*. The design of the research used is *true experimental design post test control only*. There are 7 groups consists of andong (*Cordyline fruticosa*) leaves extract within concentration 6.25%, 12.5%, 25%, 50%, 100%, negative control group with sterile aquadest, and positive control group with *Chlorhexidine gluconate* 0.2%. Based on the statistical test of *one way Anova* ($p < 0.05$), there was significant difference between the obstacles zone diameter of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* bacteria in each control group. Furthermore, from Pearson correlation test found a very close relationship and directly propotional between the amount of concentration with the obstacles zone diameter of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* bacteria. From this research concluded that there is effect of andong (*Cordyline fruticosa*) leaves extract in inhibiting growth of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* bacteria *in vitro*.

Keyword : Andong (*Cordyline fruticosa*) leaves extract, Minimum Inhibitory Concentration, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* bacterium



DAFTAR ISI

Halaman

Cover	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
PERNYATAAN ORISINALITAS SKRIPSI	iii
KATA PENGANTAR	iv
Abstrak	vi
Abstract	viii
DAFTAR ISI	x
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
 BAB I PENDAHULUAN	 1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.3.1 Tujuan Umum	3
1.3.2 Tujuan Khusus	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
1.4.1 Manfaat Akademik	3
1.4.2 Manfaat Aplikatif	3

BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Andong (<i>Cordyline Fructicosa</i>)	5
2.1.1 Morfologi	5
2.1.2 Taksonomi	6
2.1.3 Kandungan Senyawa Kimia	6
2.2 <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	9
2.2.1 Morfologi	9
2.2.2 Taksonomi	10
2.2.3 Virulensi	10
2.3 <i>Chlorhexidine gluconate</i>	12
2.4 Klasifikasi Respon Daya Hambat Mikroba	14
 BAB III KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN	 17
3.1 Kerangka Konsep Penelitian	17
3.2 Hipotesis Penelitian	18
 BAB IV METODE PENELITIAN	 19
4.1 Rancangan Penelitian	19
4.2 Tempat dan Waktu Penelitian	19
4.3 Sampel Penelitian	19
4.3.1 Pengulangan Sampel	19
4.3.2 Variabel Penelitian	20
4.4 Alat dan Bahan	20

4.4.1 Alat dan Bahan Pembuatan Ekstrak daun Andong (<i>Cordyline fruticosa</i>)	20
4.4.2 Alat dan Bahan Identifikasi Bakteri	21
4.4.3 Alat dan Bahan untuk Metode Difusi Sumuran.....	22
4.5 Definisi Operasional	22
4.6 Prosedur Penelitian	22
4.6.1 Persiapan Sampel	22
4.6.2 Uji Identifikasi Bakteri	23
4.6.3 Persiapan Suspensi Uji <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	25
4.6.4 Pembagian Kelompok Perlakuan.....	26
4.6.5 Metode Sumuran (<i>Well Difussion</i>).....	26
4.6.6 Penghitungan Zona Hambat.....	27
4.7 Skema Alur Penelitian	28
4.8 Analisis Data.....	29

BAB V HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA 31

5.1 Hasil Identifikasi Bakteri.....	31
5.1.1 Hasil Pewarnaan <i>Gram</i>	31
5.1.2 Hasil Uji Katalase	31
5.1.3 Hasil Uji Oksidase	32
5.1.4 Hasil Uji pada Agar <i>MacConkey</i>	32
5.1.5 Hasil Uji Hemolisis.....	33
5.2 Hasil Penelitian Pendahuluan	33

5.3 Hasil Penelitian.....	34
5.4 Analisis Data.....	35
5.4.1 Hasil Pengujian Normalitas dan Uji Homogenitas Varians Terhadap Ekstrak Daun Andong (<i>Cordyline fruticosa</i>)	36
5.4.2 Analisis Hasil Perhitungan Pada Ekstrak Daun Andong (<i>Cordyline fruticosa</i>)	36
BAB VI PEMBAHASAN	39
BAB VII PENUTUP	43
7.1 Kesimpulan	43
7.2 Saran.....	43
DAFTAR PUSTAKA	45
LAMPIRAN	53

DAFTAR GAMBAR

Halaman

Gambar 2.1 Andong	5
Gambar 2.2 <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	9
Gambar 3.1 Kerangka konsep penelitian	17
Gambar 4.1 Skema Alur Penelitian	28
Gambar 5.1 Hasil Pewarnaan Gram <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	31
Gambar 5.2 Hasil Uji Katalase <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> ...	31
Gambar 5.3 Hasil Uji Oksidase <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> ..	32
Gambar 5.4 Hasil Uji MacConkey <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	33
Gambar 5.5 Hasil Uji Hemolisis <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	33
Gambar 5.6 Hasil Penelitian Pendahuluan dengan Metode Difusi Sumuran	34
Gambar 5.7 Zona bening yang dihasilkan oleh ekstrak daun Andong (<i>Cordyline fruticosa</i>) di sekitar sumuran bakteri <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	34
Gambar 5.8 Grafik diameter zona hambat bakteri berdasarkan rumus persamaan garis regresi.....	37

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	Klasifikasi respon Daya Hambat Menurut David dan Stout.....
Tabel 2.2	Klasifikasi respon Daya Hambat Menurut Greenwood.....
Tabel 5.1	Diameter Zona Hambat Bakteri.....



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Pernyataan Keaslian Tulisan	53
Lampiran 2 Surat Keterangan Determinasi Daun Andong	54
Lampiran 3 Dokumentasi Hasil Penelitian	55
Lampiran 4 Data Hasil Analisis Statistik.....	57



BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Masalah

Kesehatan gigi dan mulut sering kali menjadi prioritas kesekian bagi sebagian orang. Sedangkan, persentase penduduk yang mempunyai masalah gigi dan mulut berdasarkan Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS) tahun 2007 sebesar 23,2% kemudian pada tahun 2013 meningkat menjadi 25,9%, serta terdapat 14 provinsi yang memiliki prevalensi masalah gigi dan mulut di atas angka nasional. Menurut Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS) tahun 2013, penyakit periodontal menduduki urutan kedua di Indonesia yaitu mencapai 96,58%. Penyakit periodontal merupakan penyakit dalam rongga mulut yang diderita oleh hampir semua manusia di dunia dan mencapai 50% dari jumlah populasi orang dewasa. Periodontitis merupakan penyakit infeksi pada jaringan penyangga gigi, disebabkan oleh bakteri dan menyebabkan kerusakan ligamen periodontal, tulang alveolar, membentuk poket, resesi atau keduanya (Newman, 2015).

Salah satu faktor penting yang menyebabkan penyakit periodontal adalah bakteri patogen. Bakteri patogen yang telah terdata sebagai patogen utama diantaranya *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, dan *Treponema denticola*. *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* adalah bakteri gram negatif yang ditemukan sebesar 28,2% pada periodontitis kronis, 81,8% pada periodontitis agresif terlokalisasi, dan 40,9% pada periodontitis agresif (Newman, 2015). Bakteri ini mampu menyebabkan pembentukan poket periodontal, destruksi jaringan ikat, serta resorpsi tulang alveolar yang menjadi tanda-tanda penyakit periodontitis (Martinez dan Ruiz, 2005). Selain itu, pada bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* terdapat beberapa faktor virulensi seperti leutoksin, superantigen, *Cytolethal Distending Toxin (CDT)*, *Fragmen Crystallizable (FC) binding protein*, penghambat kemotatik (*Chemotatic Inhibitor*), faktor immunosupresif, lipopolisakarida, bakteriosin, kolagenase, dan sitotoksin (Sriraman *et al.*, 2014).

Salah satu tanaman yang digunakan masyarakat sebagai obat tradisional adalah tanaman andong. Andong (*Cordyline fruticosa*) adalah tanaman hias yang jumlahnya sangat melimpah di Indonesia dan sejak dulu digunakan sebagai ramuan herbal dalam menghentikan perdarahan. Andong (*Cordyline fruticosa*) dari suku Liliaceae daunnya mengandung tanin, saponin, flavonoida, polifenol, steroida, polisakarida, kalsium oksalat dan zat besi (Dalimartha, 2006). Famili *Liliaceae* dikenal sebagai salah satu famili yang sangat kaya akan kandungan saponin. Bawang putih juga termasuk famili *Liliaceae* yang mengandung saponin steroid (Matsuura, 2001). Tanaman andong termasuk famili *Liliaceae* yang banyak mengandung saponin. Berdasarkan hasil penelitian bahwa daun andong mengandung saponin steroid tetapi aktivitas biologis terhadap hewan uji belum dilakukan (Bogoriani, 2001; Bogoriani, 2008).

Berdasarkan penelitian sebelumnya, ekstrak daun Andong (*Cordyline fruticosa*) telah terbukti memiliki aktivitas sebagai antimikroba terhadap *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, dan *Shigella dysenteriae* dengan konsentrasi hambat minimum sebesar 5% (Annisa, dkk., 2012). Ketiga bakteri tersebut adalah bakteri gram negatif yang ditemukan pada system pencernaan sama halnya dengan bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. Namun, belum ada penelitian ilmiah mengenai efek ekstrak daun Andong (*Cordyline fruticosa*) terhadap bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, sehingga penulis ingin meneiliti mengenai pengaruh ekstrak daun Andong (*Cordyline fruticosa*) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* secara *in vitro*.

1.2 Rumusan Masalah

Bagaimana pengaruh ekstrak daun Andong (*Cordyline fruticosa*) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* secara *in vitro*?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Mengetahui pengaruh ekstrak daun Andong (*Cordyline fruticosa*) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* secara *in vitro*

1.3.2 Tujuan Khusus

Mengetahui perbandingan konsentrasi ekstrak daun Andong (*Cordyline fruticosa*) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* secara *in vitro*.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Akademik

1. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang manfaat ekstrak daun Andong (*Cordyline fruticosa*) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*
2. Dapat dijadikan sebagai dasar teori untuk mengembangkan penelitian dari manfaat ekstrak daun Andong (*Cordyline fruticosa*) di bidang kedokteran gigi.

1.4.2 Manfaat Aplikatif

Dapat dijadikan sebagai suatu bahan dasar alternatif baru untuk obat antimikroba terhadap *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* yang merupakan penyebab pada periodontitis agresif.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Andong (*Cordyline fruticosa*)

2.1.1 Morfologi



Gambar 2.1 Andong (dalimartha, 2006)

Andong (*Cordyline fruticosa*) adalah tanaman yang biasa ditanam sebagai tanaman hias di pekarangan, taman, atau kuburan. Biasa juga dipakai sebagai tanaman pagar. Tanaman ini berasal dari Asia Timur dan bisa ditemukan dari dataran rendah sampai ketinggian 1.900 mdpl (Dalimartha, 2006).

Pohon dengan tinggi 5 m, berbatang keras. Daun tunggal dengan warna merah kecokelatan atau hijau tua. Letak daun tersebar pada batang, terutama berkumpul di ujung batang dengan letak berjejal dan tersusun spiral membentuk roset batang. Helaian daun panjang berbentuk lanset dengan panjang 20-60 cm dan lebar 10-15 cm, ujung dan pangkalnya runcing, tepi rata, pertulangan menyirip, dan tangkai daunnya berbentuk talang. Bunga majemuk berbentuk malai, tumbuh di ketiak daun dengan tangkai bunga panjang. Bunga berwarna kuning atau

kemerahan dan beraroma. Buah buni berbentuk seperti bola dengan warna merah mengilap. Biji hitam mengilap. Akar serabut berwarna putih kotor (Napitupulu, dkk., 2015).

2.1.2 Taksonomi

Tumbuhan Andong memiliki sistematika sebagai berikut :

Kingdom : Plantae

Subkingdom: Tracheobionta

Super Divisi : Spermatophyta

Divisi : Magnoliophyta

Kelas : Liliopsida

Sub Kelas : Liliidae

Ordo : Liliales

Famili : Agavaceae/Liliaceae

Genus : Cordyline

Spesies : *Cordyline fruticosa* (L.) A.Chev.

2.1.3 Kandungan Senyawa Kimia

Andong (*Cordyline fruticosa*) telah diketahui mengandung zat aktif seperti saponin, tanin, flavonoid, polifenol, steroida, polisakarida, kalsium oksalat, dan zat besi (Dalimartha, 2006).

A. Saponin

Saponin merupakan salah satu golongan glikosida yang mempunyai struktur steroid dan tripenoid. Saponin berfungsi sebagai penghambat kolonisasi bakteri, penurunan tegangan permukaan medium ekstraseluler, atau dengan cara melisiskan membran sel bakteri. Saponin juga berfungsi mengganggu permeabilitas membran sel bakteri yang mengakibatkan kerusakan membran sel dan menyebabkan keluarnya berbagai komponen penting dari dalam sel bakteri yaitu protein, asam nukleat dan nukleotida (Zahro dan Agustini, 2013).

B. Tanin

Tanin merupakan senyawa kimia yang tergolong dalam senyawa polifenol (Deaville dkk., 2010). Tanin mempunyai kemampuan mengendapkan protein karena tanin mengandung sejumlah kelompok ikatan fungsional yang kuat dengan molekul protein yang selanjutnya akan menghasilkan ikatan silang yang besar dan kompleks yaitu protein tannin (Ahadi, 2003). Sintesis protein yang terhambat menyebabkan rusaknya membran sel mikroorganisme. Tanin mempunyai berat molekul 0,5-3 KD. Tanin alami larut dalam air dan memberikan warna pada air. Warna larutan tanin bervariasi dari warna terang sampai warna merah gelap atau colat karena setiap tanin memiliki warna yang khas (Ahadi, 2003).

C. Flavonoid

Flavonoid merupakan senyawa aktif yang memiliki fungsi untuk mengganggu sintesis dinding sel bakteri sehingga terjadi kebocoran plasma yang diakhiri dengan lisisnya bakteri. Flavonoid juga berfungsi untuk menghambat DNA gyrase dan menghambat aktivitas enzim ATPase bakteri (Dewi IK dkk, 2013).

Selain itu, flavonoid juga dilaporkan berperan sebagai antivirus, antibakteri, antiradang, dan antialergi. Sebagai antifungi, flavonoid mempunyai senyawa genestein yang berfungsi menghambat pembelahan atau proliferasi sel. Senyawa ini mengikat protein mikrotubulus dalam sel dan mengganggu fungsi mitosis gelendong sehingga menimbulkan penghambatan pertumbuhan jamur. Flavonoid menunjukkan toksisitas rendah pada mamalia sehingga beberapa flavonoid digunakan sebagai obat bagi manusia (Siswandono & Soekardjo, 2000; Roller, 2003).

D. Polifenol

Polifenol adalah kelompok zat kimia yang ditemukan pada tumbuhan. Zat ini memiliki tanda khas yaitu memiliki banyak gugus

fenol dalam molekulnya. Polifenol sering terdapat dalam bentuk glikosida polar dan mudah larut dalam pelarut polar (Asih, 2014).

E. Steroid

Steroid adalah suatu golongan senyawa triterpenoid yang mengandung inti siklopentana perhidrofenantren yaitu tiga cincin sikloheksa dan sebuah cincin siklopentana. Pada tahun-tahun terakhir ini, makin banyak senyawa steroid yang ditemukan dalam jaringan tumbuhan. Tiga senyawa yang biasa disebut fitosterol terdapat pada hampir setiap tumbuhan tinggi yaitu : sitosterol, stigmasterol, dan kampesterol (Asih, 2014).

F. Polisakarida

Polisakarida dengan rumus umum ($C_6H_{10}O_5$) adalah polimer alami yang bila dihidrolisis menghasilkan banyak molekul monosakarida. Dalam nomenklatur kimia, polisakarida merupakan glikan dan sebagai terdiri dari unit glikosil. Polisakarida dibagi lagi menjadi 2 golongan, yaitu homopolisakarida dan heteropolisakarida. Homopolisakarida bila dihidrolisis hanya menghasilkan satu jenis monosakarida, misalnya pati dan selulosa. Heteropolisakarida bila menghasilkan lebih dari satu jenis monosakarida, misalnya inulin (Asih, 2014).

G. Kalsium oksalat

Kristal ini adalah persenyawaan antara kalsium dan asam oksalat yang tersebar pada berbagai organ tanaman yaitu batang, daun, bunga, buah, biji dan umbi. Pembentukan kristal kalsium oksalat terjadi di dalam sel idioblas yang merupakan sel yang berkembang dengan ukuran vakuola dan sitoplasma yang berbeda dengan sel di sekitarnya (Prychid, 2008).

Kristal kalsium oksalat dalam tanaman memiliki berbagai fungsi antara lain sebagai pengumpul dan penerus cahaya matahari pada daun, pengikat racun oksalat, meregulasi jumlah kalsium yang berlebihan atau

kekurangan (Asih, 2014). Kristal kalsium oksalat juga berperan dalam sistem pertahanan terhadap herbivor (Franceschi dan Nakata, 2005).

H. Zat besi

Zat besi merupakan unsur utama yang mendukung proses sintesis klorofil. Unsur tersebut berperan dalam penempelan gugus metil dalam struktur molekul klorofil (Asih, 2014). Zat besi bersifat immobil dalam tanaman, yaitu hara yang keberadaannya tidak bisa dipindahkan dengan cara dirombak kembali dari satu jaringan ke jaringan yang lain khususnya dari jaringan tua ke jaringan muda (Kim & Guerinot, 2007).

2.2 *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

2.2.1 Morfologi

Aggregatibacter actinomycetemcomitans adalah bakteri anaerob fakultatif, berbentuk kokobasil, gram negatif, dan ukuran sekitar $0.4 \times 1.0 \mu\text{m}$. Bakteri ini non-motil dan tidak bercabang. Nama ini mengacu pada bentuk bintang dalam struktur yang kadang-kadang terlihat di koloni pada media selektif dan batang pendek atau bentuk basiler sel. Bakteri ini banyak ditemukan pada mukosa, plak gigi dan jaringan periodontal (Kachlany, 2010).



Gambar 2.2 *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (Samaranayake, 2006)

2.2.2 Taksonomi

Domain : Bacteria
Filum : Proteobacteria
Kelas : Gammaproteobacteria
Ordo : Pasteurellales
Famili : Pasteurellaceae
Genus : *Aggregatibacter*
Spesies : *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (Norskov – Lauritsen *et al.*, 2006).

2.2.3 Virulensi

Aggregatibacter actinomycetemcomitans mempunyai sejumlah faktor virulensi yang membantu progresifitas penyakit. Virulensi menentukan kekuatan dari potensi patogenik dan juga berarti kapasitas relatif (kuantitas dan kualitas) dari bakteri yang menyebabkan kerusakan host dan kemampuannya untuk menguasai pertahanan tubuh (Newman, 2015). Berikut faktor virulensi pada *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* antara lain :

a. Leukotoksin

Bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* mempunyai leukotoksin yang secara spesifik membunuh makrofag dan leukosit PMN. Proses ini sangat cepat (dalam hitungan menit) dan menyebabkan pembentukan pori-pori pada membran sel target. Lisisnya sel dipicu oleh pembentukan yang cepat dari kanal ion yang sangat konduktif sehingga terjadi pembengkakan osmotik, depolarisasi membran, kehilangan K⁺ interseluler, hingga kematian sel (Sriraman *et al.*, 2014).

b. Superantigen

Superantigen merupakan protein bakteri yang mengaktifasi sel T yang berhubungan dengan reseptor V beta spesifik sel T. Akibat dari

aktifasi ini adalah apoptosis sel T dan superantigen ini bisa dianggap sebagai immunosupresan (Sriraman *et al.*, 2014).

c. *Cytolethal distending toxin*

Cytolethal distending toxin (CDT) merupakan protein modulator siklus sel dengan fungsi sebagai immunosupresan (Sriraman *et al.*, 2014). *Cytolethal Distending Toxin* (CDT) dapat menginduksi terjadinya apoptosis sel limfosit, mempengaruhi induksi dari respon imun humoral termasuk produksi sitokin (Mythireyi dan Krishnababa, 2012).

d. *Fc (Fragmen crystallizable) binding protein*

Reseptor *Fc(Fragmen crystallizable)* berfungsi sebagai penghambat aktifasi komplemen yang ditemukan pada permukaan bakteri (Sriraman *et al.*, 2014).

e. Penghambat Kemotatik (*Chemotatic Inhibitor*)

Sinyal kemotaktik berfungsi sebagai penarik neutrofil pada area yang terinfeksi (Sriraman *et al.*, 2014). Neutrofil ditarik menuju daerah yang terinfeksi dengan mengikuti gradien konsentrasi dari signal kemotaksis. Gangguan dari kemotaksis neutrofil menguntungkan bagi organisme penyebab infeksi. Bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* telah terbukti mampu menghambat kemotaksis (Mythireyi dan Krishnababa, 2012).

f. Faktor immunosupresif

Bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* telah diteliti mampu memproduksi protein yang dapat menghambat sintesis DNA, RNA dan protein pada sel T manusia yang diaktivasi oleh mitogen atau antigen (Sriraman *et al.*, 2014).

g. Lipopolisakarida

Lipopolisakarida merupakan salah satu komponen membran bakteri gram negatif penyebab sepsis patogenik. Lipopolisakarida merupakan

komponen yang paling imunogenik dari dinding sel bakteri gram negatif (Widyawati, 2014).

Resorpsi tulang yang memperparah progres periodontitis agresif juga dipicu oleh Lipopolisakarida. Lipopolisakarida (LPS) terdapat pada membran luar bakteri dan berfungsi sebagai endotoksin. LPS menghambat kolagen dan sintesis DNA serta menstimulasi inhibitor interleukin 1 yang dilepaskan oleh makrofag. Lipopolisakarida juga berkontribusi dalam kerusakan jaringan ikat periodontal dengan mengaktifasi jalur yang menstimulasi matriks metalloproteinase dan aktivator plasminogen (Sriraman *et al.*, 2014).

h. Bakteriosin

Bakteriosin bekerja dengan meningkatkan permeabilitas membran sel. Bakteriosin merupakan salah satu protein yang bisa mematikan strain atau spesies bakteri lain dan berhubungan dengan permukaan sel juga vesikel ekstraseluler bakteri (Sriraman *et al.*, 2014).

i. Kolagenase

Kolagenase dapat menyebabkan berkurangnya densitas kolagen, yang sering terjadi pada penyakit periodontal (Sriraman *et al.*, 2014).

j. Sitotoksin

Sitotoksin menyebabkan lisis pada leukosit PMN dan makrofag. Sitotoksin yang dihasilkan oleh *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* berupa *heat-labile* sitotoksin. *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* menghasilkan 115 Kda protein *heat-labile*.

2.3 Chlorhexidine gluconate

Chlorhexidine adalah suatu antiseptik yang termasuk golongan bisbiguanide bersifat fungisid dan bakterisid yang umumnya digunakan dalam bentuk glukonatnya. *Chlorhexidine* menyerang bakteri Gram

postif dan negatif, bakteri ragi, jamur, protozoa, alga dan virus. *Chlorhexidine* merupakan antiseptik dan disinfektan yang mempunyai efek bakterisidal dan bakteriostatik terhadap bakteri Gram (+) dan Gram (-). *Chlorhexidine* lebih efektif terhadap bakteri Gram (+) dibandingkan dengan bakteri Gram (-). *Chlorhexidine* sangat efektif mengurangi radang gingiva, akumulasi plak, dan plak kontrol pada perawatan radang gingiva (Haveles, 2000).

Chlorhexidine memiliki toksisitas yang rendah karena sangat sedikit diserap oleh saluran gastrointestinal. Namun demikian, *chlorhexidine* memberikan efek samping berupa rasa yang tidak enak, mengganggu sensasi rasa, dan menghasilkan warna coklat pada gigi yang susah untuk dihilangkan.

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa *chlorhexidine* dengan konsentrasi 0,1%- 0,2% efektif terhadap gingivitis. Penelitian menunjukkan bahwa berkumur dengan *chlorhexidine* 0,2% dua kali sehari sebanyak 10 ml dapat menurunkan skor plak sebesar 85% dan skor perdarahan sebesar 77% pada hari ke-7 (Rosmelita 2003), sedangkan penelitian Alberto dkk, (1991) menemukan bahwa *chlorhexidine* 0,12% efektif menekan jumlah bakteri aerob dan an-aerob fakultatif dalam mulut sampai 97%.

Chlorhexidine dapat menyebabkan kematian sel bakteri dengan menimbulkan kebocoran sel (pada pemaparan *chlorhexidine* konsentrasi rendah) dan koagulasi kandungan intraselular sel bakteri pada pemaparan *chlorhexidine* konsentrasi tinggi (Singh, 2010).

Chlorhexidine akan diserap dengan sangat cepat oleh bakteri dan penyerapan ini tergantung pada konsentrasi *chlorhexidine* dan pH. *Chlorhexidine* menyebabkan kerusakan pada lapisan luar sel bakteri, namun kerusakan ini tidak cukup untuk menyebabkan kematian sel atau lisisnya sel (Singh, 2010).

Chlorhexidine akan melintasi dinding sel atau membran luar, diduga melalui proses difusi pasif, dan menyerang sitoplasmik bakteri atau membran dalam sel bakteri. Kerusakan pada membran semi permeabel ini akan diikuti dengan keluarnya kandungan intraselular sel bakteri. Kebocoran sel tidak secara langsung menyebabkan inaktivasi selular, namun hal ini merupakan konsekuensi dari kematian sel. Chlorhexidine konsentrasi tinggi akan menyebabkan koagulasi (penggumpalan) kandungan intraselular sel bakteri sehingga sitoplasma sel menjadi beku, dan mengakibatkan penurunan kebocoran kandungan intraselular. Jadi terdapat efek bifasik (memiliki 2 fase) chlorhexidine pada permeabilitas membran sel bakteri, dimana peningkatan kebocoran kandungan intraselular akan bertambah seiring bertambahnya konsentrasi chlorhexidine, namun kebocoran ini akan menurun pada chlorhexidine konsentrasi tinggi akibat koagulasi dari sitosol (cairan yang terletak di dalam sel) sel bakteri (Singh, 2010).

2.4 Klasifikasi Respon Daya Hambat Mikroba

Terdapat 2 teori mengenai klasifikasi respon daya hambat mikroba yang sering digunakan pada penelitian, yaitu :

1. Menurut David dan Stout (1971) dalam Ambarwati (2007)

Tabel 2.1 Klasifikasi Respon Daya Hambat menurut David dan Stout (Ambarwati, 2007)

Diameter Zona Bening	Respon Hambatan Bakteri
>20 mm	Sangat Kuat
10-20 mm	Kuat
5-10 mm	Sedang
<5 mm	Lemah

2. Menurut Greenwood (1995) dalam Pratama (2005)

Tabel 2.2 Klasifikasi Respon Daya Hambat menurut Greenwood (Pratama, 2005)

Diameter Zona Terang	Respon Hambatan Bakteri
>20 mm	Kuat (Sensitif)
16-20 mm	Sedang (Intermediet)
10-15 mm	Lemah (Resisten)
<10 mm	Kurang Efektif

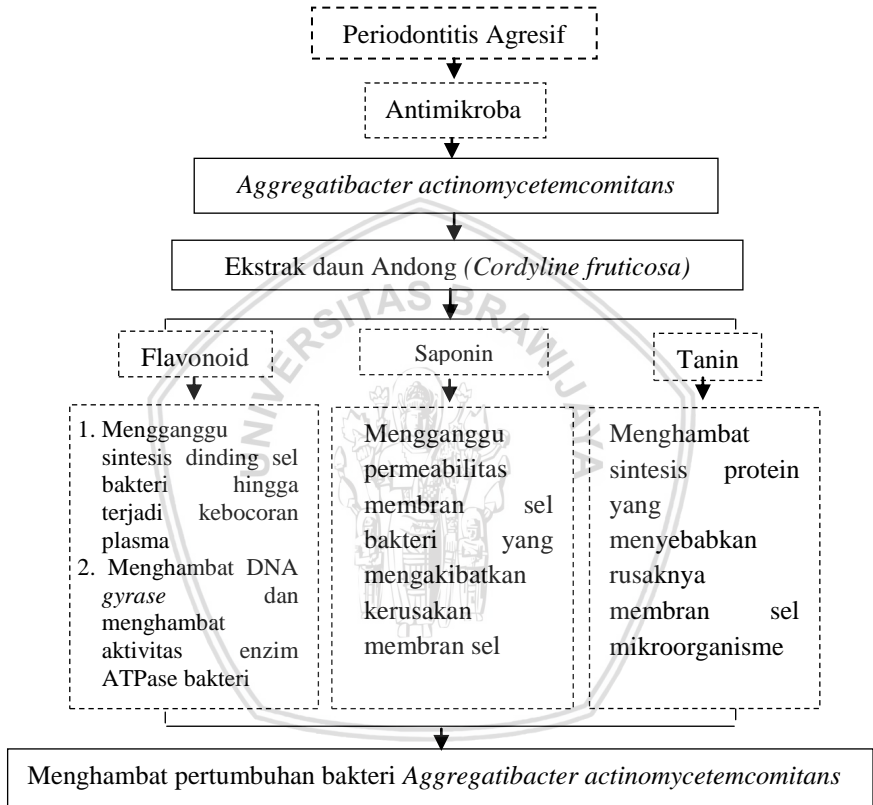




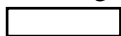
BAB III

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep Penelitian



Keterangan :



: Variabel yang diteliti



: Variabel yang tidak diteliti

Gambar 3.1 Kerangka konsep penelitian

Pada penelitian ini menggunakan ekstrak daun andong (*Cordyline fruticosa*) sebagai bahan antimikroba. Ekstrak daun andong (*Cordyline*

fruticosa) mengandung zat aktif seperti saponin, tanin, flavonoid, polifenol, steroida, polisakarida, kalsium oksalat, dan zat besi (Dalimartha, 2006).

Mekanisme kerja flavonoid sebagai agen antibakteri adalah Membentuk kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut serta dengan dinding mikroba yang menyebabkan terganggunya fungsi sel dan menghambat siklus sel mikroba, denaturasi protein, menginaktifkan enzim dan menyebabkan kerusakan pada sel bakteri. Flavonoid memiliki fungsi untuk mengganggu sintesis dinding sel bakteri sehingga terjadi kebocoran plasma yang diakhiri dengan lisisnya bakteri. Mekanisme kerja saponin yaitu mengganggu permeabilitas membran sel bakteri, yang menyebabkan kerusakan pada membran sel dan mengakibatkan keluarnya berbagai komponen penting dari dalam sel bakteri yaitu protein, asam nukleat dan nukleotida. Saponin berfungsi sebagai penghambat kolonisasi bakteri, penurunan tegangan permukaan medium ekstraseluler, atau dengan cara melisiskan membran sel bakteri. Mekanisme kerja tanin yaitu membentuk kompleks dengan ion metal, sehingga tanin dapat mereduksi ketersediaan ion metal esensial untuk mikroorganisme. Tanin mempunyai kemampuan mengendapkan protein karena tanin mengandung sejumlah kelompok ikatan fungsional yang kuat dengan molekul protein yang selanjutnya akan menghasilkan ikatan silang yang besar dan kompleks yaitu protein tanin. Sintesis protein yang terhambat menyebabkan rusaknya membran sel mikroorganisme.

Melalui skema diatas, maka ekstrak daun andong (*Cordyline fruticosa*) memungkinkan dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* sehingga berpotensi sebagai antimikroba.

3.2 Hipotesis Penelitian

- 3.3 Ekstrak daun andong (*Cordyline fruticosa*) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* secara *in vitro*



BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian yang digunakan adalah penelitian eksperimental dengan rancangan *true experimental design post test control only*. Metode penelitian yaitu dengan difusi sumuran untuk mengukur zona hambat yang terbentuk sehingga dapat mengetahui kemampuan ekstrak daun andong (*Cordyline fruticosa*) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*.

4.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Pembuatan ekstrak daun andong dilakukan di Laboratorium Kimia, Politeknik Negeri Malang kemudian penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya pada bulan Mei 2018.

4.3 Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan dalam penelitian adalah bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* yang didapatkan dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga, Surabaya dan ekstrak daun Andong yang didapatkan dari UPT Materia Medika, Kota Batu, Jawa Timur.

4.3.1 Pengulangan Sampel

Penelitian ini menggunakan 7 perlakuan yang terdiri dari 5 kelompok perlakuan dengan konsentrasi berbeda (sebesar 6,25%, 12,5%, 25%, 50%, dan 100%), kontrol negatif, dan kontrol positif. Banyaknya pengulangan yang diperlukan dalam penelitian ini dapat dihitung dengan menggunakan rumus Federer:

$$(p-1)(n-1) \geq 15$$

$$(7-1)(n-1) \geq 15$$

$$6n-6 \geq 15$$

$$6n \geq 21$$

$$n \geq 3,5$$

$$n \approx 4 \text{ (Dibulatkan ke atas menjadi 4)}$$

Keterangan:

p = jumlah perlakuan

n = jumlah ulangan yang diperlukan

Berdasarkan perhitungan rumus diatas, maka pengulangan yang dilakukan untuk mendapatkan jumlah sampel yang dapat dipercaya adalah sebanyak empat kali pengulangan.

4.3.2 Variabel Penelitian

4.3.2.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak daun andong (*Cordyline fruticosa*) dengan konsentrasi sebesar 6,25%, 12,5%, 25%, 50%, dan 100% yang digunakan sebagai penelitian pendahuluan. Kemudian dilanjutkan untuk digunakan pada penelitian pengulangan dengan konsentrasi yang sama.

4.3.2.2 Variabel Terikat

Variabel terikat adalah pertumbuhan bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* dilihat dari diameter zona hambat yang terbentuk setelah diberi perlakuan beberapa konsentrasi ekstrak daun andong (*Cordyline fruticosa*).

4.4 Alat dan Bahan

4.4.1 Alat dan Bahan Pembuatan Ekstrak Daun Andong (*Cordyline fruticosa*)

Alat yang digunakan dalam pembuatan ekstrak daun andong (*Cordyline fruticosa*):

1. Timbangan
2. Blender
3. Erlenmeyer
4. Corong buchner
5. Rotary evaporator
6. Pisau

Bahan yang digunakan dalam pembuatan ekstrak daun andong (*Cordyline fruticosa*):

1. Daun andong (*Cordyline fruticosa*)
2. Etanol 96%

4.4.2 Alat dan Bahan Identifikasi Bakteri

4.4.2.1 Alat dan Bahan untuk Pewarnaan Gram

1. Isolat bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*
2. Bahan pewarnaan Gram (kristal, violet, lugol, alkohol 96%, safranin)
3. *Nutrient Broth*
4. Ose
5. Kertas penghisap
6. Minyak emersi
7. Mikroskop
8. Gelas objek
9. Tabung reaksi
10. Lampu spiritus

4.4.2.2 Alat dan Bahan untuk Tes Katalase

1. Gelas objek
2. Pipet
3. Isolat bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*
4. Larutan H_2O_2 3%
5. Akuades

4.4.2.3 Alat dan Bahan untuk Agar MacConkey

1. Isolat bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*
2. Medium *MacConkey* agar
3. Inkubator
4. Ose

4.4.2.4 Alat dan Bahan Uji Oksidase

1. Isolat bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*
2. Kertas filter
3. Substrat *tetramethyl-p-phenylenediamine dihydrochloride*
4. Air destilasi steril
5. Spatula kayu atau ose

4.4.2.5 Alat dan Bahan Kultur pada Uji Hemolisis

1. Isolat bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*
2. *Blood Agar Plate (BAP)*
3. Ose

4. Inkubator
5. Cawan Petri

4.4.3 Alat dan Bahan untuk Metode Difusi Sumuran

1. Spektrofotometer
2. Tabung reaksi
3. Vortex
4. Spiritus
5. Cawan petri
6. Inkubator
7. Mikropipet
8. Ose
9. Isolat bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*
10. Media BHIA (*Brain Heart Infusion Agar*)
11. Media BHIB (*Brain Heart Infusion Broth*)
12. Akuades Steril
13. Ekstrak etanol daun andong (*Cordyline fruticosa*) dalam beberapa konsentrasi.

4.5 Definisi Operasional

1. Ekstrak daun andong (*Cordyline fruticosa*) adalah ekstrak yang diperoleh dari proses maserasi dengan pelarut etanol 96% yang dilarutkan dalam 5 konsentrasi yang berbeda-beda yaitu 100%, 50%, 25%, 12,5%, dan 6,25%.
2. Pertumbuhan bakteri dilihat dari diameter zona hambat yang terbentuk. Diameter zona hambat adalah diameter zona dimana bakteri tidak tumbuh, ditandai dengan zona bening yang diukur dengan jangka sorong dengan satuan millimeter (mm).

4.6 Prosedur Penelitian

4.6.1 Persiapan sampel

1. Daun andong (*Cordyline fruticosa*) yang dicuci lalu dikeringkan.
2. Daun andong (*Cordyline fruticosa*) yang telah kering dihaluskan menggunakan blender hingga menjadi serbuk (simplesia).
3. Serbuk diekstraksi dengan teknik maserasi menggunakan pelarut etanol 96% selama 2 x 24 jam dan disaring menggunakan kertas saring

4. Simplisia diekstraksi kembali dengan larutan etanol 96% dengan perbandingan simplisia dan pelarut (1:4) untuk hari kedua kemudian disaring kembali dengan kertas saring untuk memisahkan filtrat dan ampas.
5. Dilakukan proses evaporasi untuk memisahkan pelarut etanol dengan ekstrak menggunakan evaporator.
6. Diperoleh hasil akhir ekstrak etanol daun andong (*Cordyline fruticosa*) dengan konsentrasi 100%. Hasil akhir inilah yang akan digunakan dalam percobaan.
7. Dilakukan pengenceran ekstrak menjadi 6,25%, 12,5%, 25%, 50%, dan 100%.

4.6.2 Uji Identifikasi Bakteri

4.6.2.1 Pewarnaan Gram

Identifikasi bakteri dengan pewarnaan gram bertujuan untuk mengetahui jenis bakteri tersebut termasuk gram positif atau gram negatif. Pewarnaan Gram menurut penelitian Chaskes *et al.* pada tahun 2015 dapat dilakukan dengan cara:

1. Buat suspensi air suling dan koloni bakteri pada *object glass* dan dikeringkan di udara
2. Sediaan yang telah kering di fiksasi diatas api bunsen
3. Sediaan diberi larutan kristal violet selama satu menit, kemudian dibilas dengan air mengalir
4. Sediaan diberi larutan lugol selama satu menit, kemudian dibilas dengan air mengalir
5. Preparat dicelupkan ke dalam alkohol 96% untuk melunturkan zat warna utama, sehingga diketahui warna bakteri merah atau ungu
6. Cuci dengan air kran sampai bersih, kemudian sediaan diberi *safranin*, lalu didiamkan selama 30 detik, lalu dibilas dengan air
7. Sediaan dikeringkan dengan kertas penghisap, ditetesi minyak emersi dan dilihat di bawah mikroskop dengan perbesaran 1000x.

4.6.2.2 Tes Katalase

Tes katalase ini bertujuan untuk mendeteksi adanya enzim katalase yang diproduksi oleh bakteri. Uji ini dilakukan dengan cara menambahkan larutan H_2O_2 3% pada perbenihan cair. Prosedur dari tes katalase ini antara lain (Reiner, 2013):

1. Sediakan perbenihan bakteri pada gelas objek

2. Tetesi sediaan dengan larutan H_2O_2 3%
3. Amati timbulnya gelembung-gelembung udara pada gelas objek
4. Hasil tes katalase pada *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* akan menunjukkan hasil yang positif, dapat diamati melalui timbulnya gelembung-gelembung udara tersebut.

4.6.2.3 Kultur pada Agar MacConkey

Kultur pada agar *MacConkey* dilakukan untuk mengisolasi dan membedakan bakteri Gram-negatif yang memfermentasi laktosa atau tidak dengan melihat perubahan warna pada indikator pH hasil fermentasi laktosa bakteri. Fermentasi laktosa menyebabkan pH di sekitar koloni turun dan menyebabkan perubahan warna pada indikator pH. Bakteri yang memfermentasi laktosa tumbuh sebagai koloni merah atau merah muda. Bakteri yang tidak memfermentasi laktosa tumbuh dengan koloni tidak berwarna dan transparan. Inokulasi bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* dilakukan dengan metode *streaking* pada medium agar. Tahapannya adalah :

- a. Inkubasikan pada inkubator dengan suhu $37^{\circ}C$ selama 18-24 jam dan diamati hasilnya.
- b. Bila tampak perubahan warna menjadi merah pada koloni bakteri, artinya bakteri uji memfermentasikan laktosa.

4.6.2.4 Uji Oksidase

Uji ini dilakukan untuk mengidentifikasi bakteri yang memproduksi *cytochrome c oxidase*, sebuah enzim pada bakteri yang berperan dalam rantai transport electron. Bila terdapat enzim tersebut, *cytochrome c oxidase* mengoksidase reagen *tetramethyl-p-phenylenediamine* menjadi *indophenols* berupa warna ungu sebagai produk akhir. Prosedur :

1. Ambil kertas filter, rendam dengan substrat *tetramethyl-p-phenylenediamine dihydrochloride*
2. Lembabkan kertas dengan air destilasi steril
3. Ambil koloni bakteri untuk diuji menggunakan spatula kayu atau ose dan ratakan pada kertas filter
4. Amati area inokulasi pada kertas selama 10-30 detik untuk melihat perubahan warna menjadi biru tua atau ungu
5. Bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* bereaksi positif terhadap uji oksidase ini (Acharya, 2012).

4.6.2.5 Uji Hemolisis

Uji Hemolisis bertujuan untuk mengetahui sifat hemolisis dari bakteri yang diuji dengan metode streaking pada media *Blood Agar Plate* (BAP). Tahapannya adalah :

1. Siapkan agar darah (*Blood Agar*) pada *petridisc* steril
2. Bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* diambil dengan ose steril dan ditambahkan pada media agar darah dengan menggunakan metode gores (*streak*)
3. Media agar darah yang telah ditanami bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* diinkubasi pada suhu 37°C dalam inkubator selama 18-24 jam
4. Amati morfologi koloni yang terbentuk. Bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* akan menunjukkan reaksi beta hemolisis (β) atau hemolisis total yang ditandai dengan adanya zona jernih disekitar koloni bakteri.

4.6.3 Persiapan Suspensi Uji *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

Pembuatan inokulum bakteri dilakukan dalam beberapa tahap (Sutton, 2011):

1. Persiapkan bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* yang telah diidentifikasi, dibiakkan pada media BHIB (*Brain Heart Infusion Broth*) yang disimpan dalam inkubator selama 24 jam pada suhu 37°C.
2. Media BHIB berisi bakteri dimasukkan ke dalam spektrofotometer kemudian diukur Optical Density (OD) atau kepadatan optisnya dengan spektrofotometer pada $\lambda_{maks} = 625 \text{ nm}$ setara dengan standar 0,5Mc Farland. Dari hasil yang diperoleh ($OD = 0,1$) didapat suspensi bakteri yang mengandung 1×10^8 CFU/ml.
3. Dibuat suspensi bakteri uji yang mengandung 1×10^8 CFU/ml dengan rumus :

$$N_1 \times V_1 = N_2 \times V_2$$

Keterangan :

- a. N_1 = Nilai absorbansi suspensi (hasil spektrofotometri)
- b. V_1 = Volume bakteri yang akan ditambah pengencer
- c. N_2 = Optical density ($0,1 = 10^8$ CFU/ml)

d. V_2 = Volume suspensi bakteri uji

4.6.4 Pembagian Kelompok Perlakuan

1. Kontrol negatif : bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* dan diberi perlakuan akuades steril
2. Kontrol positif : bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* dan diberi perlakuan klorheksidin glukonat 0,2%
3. Kelompok 1: bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* dan diberi perlakuan ekstrak daun andong (*Cordyline fruticosa*) dengan konsentrasi 6,25%.
4. Kelompok 2: bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* dan diberi perlakuan ekstrak daun andong (*Cordyline fruticosa*) dengan konsentrasi 12,5%.
5. Kelompok 3: bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* dan diberi perlakuan ekstrak daun andong (*Cordyline fruticosa*) dengan konsentrasi 25%.
6. Kelompok 4: bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* dan diberi perlakuan ekstrak daun andong (*Cordyline fruticosa*) dengan konsentrasi 50%.
7. Kelompok 5: bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* dan diberi perlakuan ekstrak daun andong (*Cordyline fruticosa*) dengan konsentrasi 100%.

4.6.5 Metode Sumuran (*Well Difussion*)

Prosedur yang dilakukan dalam metode sumuran antara lain (Nurainy, 2008; Dewi, 2010):

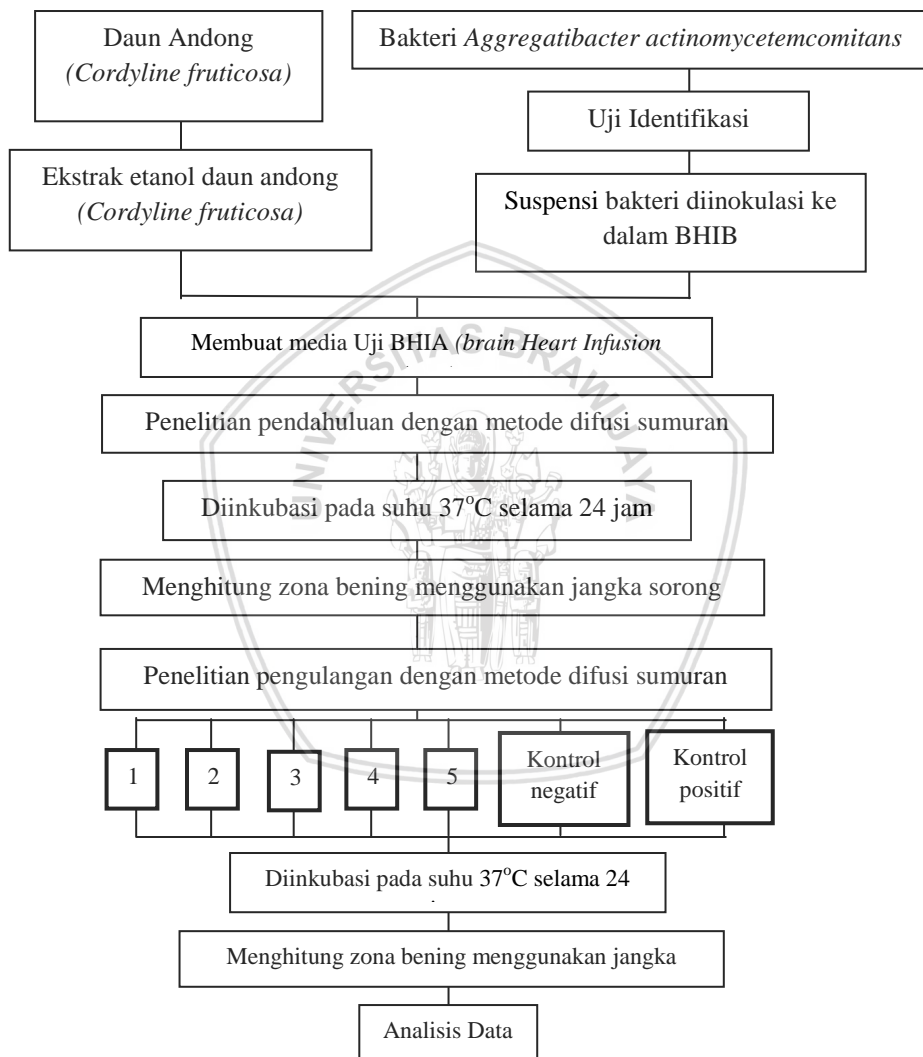
1. Metode sumuran dilakukan dengan menggunakan media Media BHIA (*Brain Heart Infusion Agar*) yang bercampur dengan bakteri uji di dalamnya.
2. Media yang sudah bercampur bakteri uji dituang kedalam cawan petri steril masing-masing 15 mL dan didiamkan selama 30 menit hingga memadat.
3. Media dilubangi dengan sedotan keras sebanyak tujuh lubang (sumur) secara aseptis dengan berdiameter 5 mm.

4. Larutan ekstrak daun andong (*Cordyline fruticosa*) sebanyak 50 μL dengan konsentrasi 6,25%, 12,5%, 25%, 50%, dan 100% dimasukkan dalam lubang-lubang tersebut.
5. Akuades steril sebagai kontrol negatif dimasukkan ke dalam lubang tersebut.
6. Klorheksidin glukonat 0,2% sebagai kontrol positif dimasukkan ke dalam lubang tersebut.
7. Inkubasi dilakukan secara statis pada suhu 37°C selama 24 jam.
8. Hasil inkubasi akan menunjukkan adanya koloni bakteri uji dan zona bening disekitar sumuran, yang menandakan adanya efek penghambatan larutan uji terhadap bakteri uji. Zona bening yang ada merupakan zona hambat, dapat diukur dengan menggunakan jangka sorong.

4.6.6 Penghitungan Zona Hambat

Zona hambat senyawa antimikroba dari ekstrak daun andong (*Cordyline fruticosa*) diukur berdasarkan diameter (mm). Penghambatan berupa areal bening di sekeliling sumur uji. Pengukuran diameter (mm) dilakukan dengan menggunakan jangka sorong (ketelitian 0,05 mm) pada tujuh diameter zona hambat lalu dirata-rata.

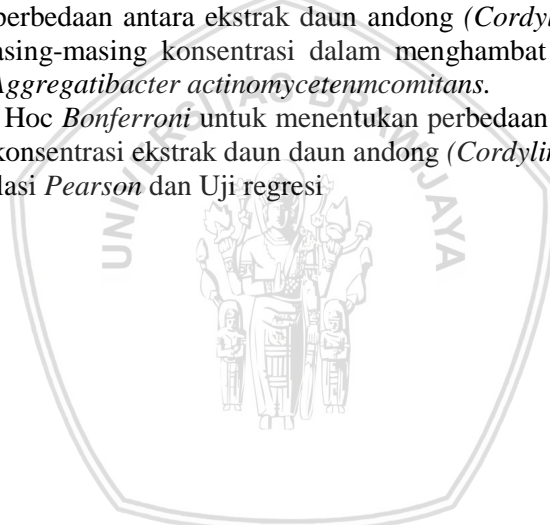
4.7 Skema Alur Penelitian



Gambar 4.1 Skema Alur Penelitian

4.8 Analisa Data

1. Analisis deskriptif adalah analisis untuk memberikan gambaran tentang data penelitian yang diuraikan secara deskriptif kualitatif dan disajikan dalam bentuk tabel.
2. Uji Normalitas dan Homogenitas
 - a. Uji Normalitas dengan *Saphiro-Wilk* oleh karena besar sampel penelitian <50 .
 - b. Uji Homogenitas dengan *Levene's Test*.
3. Uji *One Way Anova* (analisa varian satu arah) untuk mengetahui adanya perbedaan antara ekstrak daun andong (*Cordyline fruticosa*) pada masing-masing konsentrasi dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*.
4. Uji Post Hoc *Bonferroni* untuk menentukan perbedaan pada masing-masing konsentrasi ekstrak daun andong (*Cordyline fruticosa*).
5. Uji korelasi *Pearson* dan Uji regresi





BAB V

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1 Hasil Identifikasi Bakteri

5.1.1 Hasil Pewarnaan Gram

Identifikasi bakteri dengan pewarnaan gram bertujuan untuk mengetahui jenis bakteri tersebut termasuk Gram positif atau Gram negatif. Pewarnaan Gram dilakukan dengan mewarnai bakteri menggunakan kristal violet dan safranin, kemudian hasilnya dilihat di bawah mikroskop dengan perbesaran 1000x. Hasil pewarnaan Gram menunjukkan bahwa bakteri yang diuji merupakan bakteri Gram negatif berbentuk kokobasil dimana tampak bakteri uji berwarna merah



(Gambar5.1).

Gambar 5.1 Hasil Pewarnaan Gram *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

5.1.2 Hasil Uji Katalase

Uji ini dilakukan untuk mendeteksi adanya enzim katalase yang diproduksi oleh bakteri. Enzim katalase berfungsi sebagai penetralisir efek bakterisidal dari hidrogen peroksida (H_2O_2). Uji ini dilakukan dengan menambahkan larutan H_2O_2 3% pada perbenihan cair. Hasil uji katalase pada *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* menunjukkan hasil yang positif, dapat diamati melalui timbulnya gelembung-



gelembung udara. Hasil uji katalase dapat diamati pada Gambar 5.2.

Gambar 5.2 Hasil Uji Katalase *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

5.1.3 Hasil Uji Oksidase

Uji oksidase dilakukan untuk mengidentifikasi bakteri yang memproduksi *cytochrome c oxidase*, sebuah enzim pada bakteri yang berperan dalam rantai transport electron. Bakteri yang mengandung enzim tersebut dapat mengoksidase reagen sehingga menghasilkan perubahan warna pada kertas reagen. Bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* menunjukkan hasil positif yaitu terdapat perubahan warna menjadi ungu pada kertas reagen oksidase dalam waktu kurang dari 10 detik. Hasil uji oksidase dapat diamati pada Gambar 5.3.



Gambar 5.3 Hasil Uji Oksidase *Aggregatibacter Actinomycetemcomitans*

5.1.4 Hasil Uji Pada Agar MacConkey

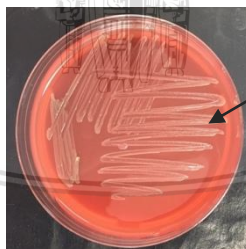
Uji pada agar *MacConkey* dilakukan untuk mengisolasi dan membedakan bakteri Gram-negatif yang memfermentasi laktosa atau tidak dengan melihat perubahan warna pada indikator pH hasil fermentasi laktosa bakteri. Uji agar MacConkey dilakukan dengan metode inokulasi bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* dengan metode streaking pada media MacConkey agar selama 24 jam. Bakteri yang tidak memfermentasi laktosa tumbuh dengan koloni tidak berwarna dan transparan. Sedangkan bakteri yang memfermentasi laktosa tumbuh sebagai koloni merah atau merah muda. *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* tidak menunjukkan perubahan warna pada media, hal ini berarti bahwa bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* tidak memfermentasi laktosa (Gambar 5.4).



Gambar 5.4 Hasil Uji MacConkey *Aggregatibacter Actinomycetemcomitans*

5.1.5 Hasil Uji Hemolisis

Uji hemolisis bertujuan untuk mengetahui sifat hemolisis dari bakteri yang diuji dengan metode *streaking* pada media *Blood Agar Plate* (BAP). Bakteri yang telah di *streaking* pada media BAP diinkubasikan pada inkubator dengan suhu 37°C selama 18-24 jam dan diamati hasilnya. Bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* menunjukkan hasil non-hemolisis yaitu tidak tampak perubahan warna pada BAP (Gambar 5.5).



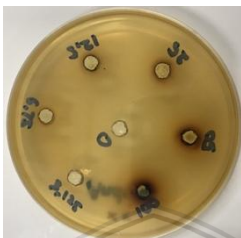
Gambar 5.5 Hasil Uji Hemolisis *Aggregatibacter Actinomycetemcomitans*

5.2 Hasil Penelitian Pendahuluan

Penelitian pendahuluan dilakukan dengan metode sumuran dengan konsentrasi 6,25%, 12,5%, 25%, 50%, 100%, kontrol positif, dan kontrol negatif. Pada uji pendahuluan ini, dilakukan inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Didapatkan zona bening disekitar sumur pada konsentrasi 12,5% sebesar 9,25 mm, konsentrasi 25% sebesar 10,25 mm, konsentrasi 50% sebesar 12,75 mm, konsentrasi 100% sebesar 13,5 mm, dan pada kontrol positif berupa klorheksidin glukonat 0,2%

34

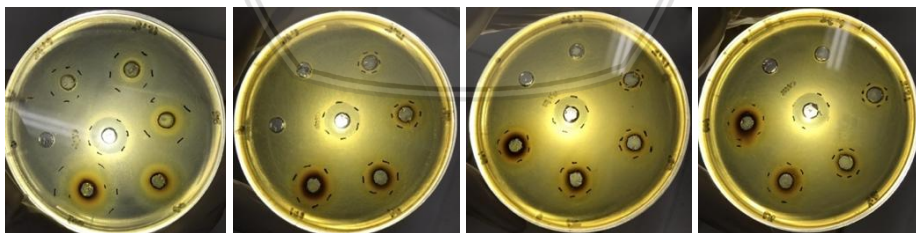
sebesar 13,5 mm, sedangkan pada konsentrasi 6,25% dan kontrol negatif berupa akuades terdapat zona bening sebesar diameter sumuran yaitu 6 mm (Gambar 5.6).



Gambar 5.6 Hasil Penelitian Pendahuluan dengan Metode Difusi Sumuran

5.3 Hasil Penelitian

Setelah melakukan penelitian pendahuluan, maka dilanjutkan penelitian pengulangan dilakukan dengan metode difusi sumuran pada konsentrasi 6,25%, 12,5%, 25%, 50%, 100%, akuades sebagai kontrol negatif dan klorheksidin glukonat 0,2% sebagai kontrol positif. Kemudian dilakukan pengulangan sebanyak 4 kali. Dilakukan inkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C, lalu diamati zona bening yang dihasilkan di sekitar sumuran (Gambar 5.7).



Gambar 5.7 Zona bening yang dihasilkan oleh ekstrak daun andong (*Cordyline fruticosa*) di sekitar sumuran bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

Berdasarkan Gambar 5.7, dapat dilihat adanya zona bening yang dihasilkan pada masing-masing sumuran yang bervariasi pada konsentrasi ekstrak yang berbeda. Setelah diberikan tanda, kemudian

diukur diameter dari masing-masing zona hambat menggunakan jangka

PERLAKUAN	Diameter zona				RERATA
	hambat bakteri (mm)				
	I	II	III	IV	
Akuades	6	6	6	6	6
Klorheksidin glukonat 0,2%	14,467	14,167	14,467	14,67	14,44
100%	15,1	13	15,1	14,23	14,357
50%	12,3	12,7	13,13	12,9	12,757
25%	10,13	10,43	10,13	11,175	10,466
12,5%	8,13	8,43	8,8	8,6	8,49
6,25%	6	6	6	6	6

sorong kemudian didapatkan hasil sebagai berikut.

Tabel 5.1 Diameter Zona Hambat Bakteri

Berdasarkan tabel hasil penelitian pengulangan tersebut didapatkan adanya perbedaan diameter zona hambat (yang terlihat berupa zona bening) pada masing-masing perlakuan. Kontrol negatif berupa akuades menghasilkan zona hambat sebesar 6 mm, begitupun pada perlakuan konsentrasi 6,25%. Kemudian diameter zona hambat semakin besar dengan semakin besarnya pula konsentrasi ekstrak daun andong (*Cordyline fruticosa*) dimulai dari konsentrasi 12,5% hingga 100%. Kelompok kontrol positif dengan perlakuan klorheksidin glukonat 0,2% menghasilkan zona hambat terbesar yaitu dengan rerata pengulangan 4 kali sebesar 14,44 mm.

5.4 Analisis Data

Analisis data dilakukan berdasarkan diameter zona hambat bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* pada sumuran yang telah diberikan perlakuan berupa ekstrak daun andong (*Cordyline fruticosa*) yang sebelumnya sudah diinkubasi. Data yang didapat dari hasil penelitian, terlebih dahulu dilakukan uji normalitas dan uji homogenitas

varian. Uji ini menggunakan uji *Shapiro- Wilk* dan uji *Lavene*. Data yang didapat normal dan homogen, maka digunakan uji *One Way ANOVA* dengan derajat kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$). Kemudian dilanjutkan dengan uji *post-hoc* dengan *Bonferroni*, uji korelasi *Pearson*, dan uji regresi linier.

5.4.1 Hasil Pengujian Normalitas dan Uji Homogenitas Varians Terhadap Ekstrak Daun Andong (*Cordyline fruticosa*)

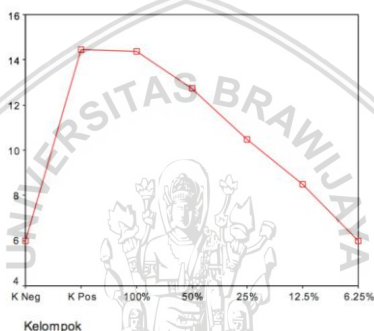
Data hasil penelitian terlebih dahulu dilakukan uji normalitas dan uji homogenitas untuk menentukan apakah bisa dilakukan uji *One Way ANOVA*. Untuk itu, dilakukan uji normalitas menggunakan *Kolmogorov-Smirnov* dan *Shapiro-Wilk*. Jumlah data hasil penelitian adalah 28 data, sehingga uji *Shapiro- Wilk* lebih tepat dilakukan untuk data yang berjumlah kurang dari 50. Hasil uji normalitas didapatkan bahwa signifikansi jumlah koloni bakteri sebesar 0,105 ($p > 0,05$) sehingga dapat disimpulkan bahwa data yang diperoleh berdistribusi normal. Setelah dilakukan uji normalitas, maka dilakukan uji homogenitas varian data menggunakan uji *Levene* untuk menguji apakah data homogen atau tidak. Hasil uji didapatkan signifikansi data sebesar 0,250 ($p > 0,05$) sehingga dapat disimpulkan bahwa data memiliki ragam varians yang sama (homogen).

5.4.2 Analisis Hasil Perhitungan Pada Ekstrak Daun Andong (*Cordyline fruticosa*)

Data yang telah diuji normalitas dan homogenitas selanjutnya dianalisis menggunakan uji *One Way ANOVA*, untuk mengetahui adanya perbedaan berbagai konsentrasi ekstrak daun andong (*Cordyline fruticosa*) terhadap jumlah diameter zona hambat bakteri. Hasil uji *One Way Anova* menunjukkan bahwa nilai signifikansi sebesar 0,000 ($p < 0,005$). Hal tersebut menunjukkan bahwa ada perbedaan yang signifikan antara kelompok perlakuan terhadap diameter zona hambat bakteri. Setelah dilakukan uji *One Way ANOVA* maka dilakukan uji *Post Hoc* dengan *Bonferroni*.

Untuk mengetahui ada atau tidaknya hubungan variable dependen dan independent serta arah hubungan tersebut, diperlukan uji korelasi. Uji korelasi yang digunakan pada penelitian ini adalah uji korelasi *Pearson* yang kemudian dilanjutkan dengan uji regresi.

Berdasarkan uji korelasi *Pearson* didapatkan bahwa terdapat korelasi yang signifikan antara perlakuan pemberian ekstrak daun andong (*Cordyline fruticosa*) terhadap diameter zona hambat bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* ($r = 0,513$, $p = 0,010$). Kekuatan korelasi bernilai 0,513 dengan arah korelasi positif. Hal ini menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi ekstrak daun andong (*Cordyline fruticosa*), maka akan semakin meningkatkan diameter zona hambat bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (Gambar 5.8).



Gambar 5.8 Grafik diameter zona hambat bakteri berdasarkan rumus persamaan garis regresi

Setelah uji korelasi *Pearson*, dilanjutkan dengan uji regresi untuk melihat seberapa besar kontribusi variabel independen dalam menyebabkan perubahan di variabel dependen. Uji regresi berfungsi untuk mengetahui bentuk hubungan antara konsentrasi ekstrak daun andong (*Cordyline fruticosa*) dan diameter zona hambat bakteri serta besarnya pengaruh peningkatan konsentrasi ekstrak daun andong (*Cordyline fruticosa*) terhadap diameter zona hambat bakteri. Koefisien determinasi *R square* (*R*) sebesar 0,264 berarti pengaruh pemberian ekstrak daun andong (*Cordyline fruticosa*) terhadap peningkatan diameter zona hambat bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* sebesar 26,4%. Sedangkan sebesar 73,6% merupakan faktor-faktor lain yang tidak diteliti yang ikut mempengaruhi dalam pemberian ekstrak daun andong (*Cordyline fruticosa*) terhadap peningkatan diameter zona hambat bakteri. Faktor-faktor lain tersebut bisa merupakan akibat

38

perubahan suhu, penyimpanan ekstrak atau perubahan konsentrasi oksigen.





BAB VI

PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh antimikroba ekstrak daun andong (*Cordyline fruticosa*) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* secara *in vitro*. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode difusi sumuran untuk melihat zona hambat bakteri. Hasil penelitian ini diperoleh dengan mengamati zona hambat dengan mengukur diameter zona bening di sekitar sumur yang berisi ekstrak daun andong (*Cordyline fruticosa*) dan bakteri. Pada penelitian ini juga dapat diketahui hubungan antara konsentrasi ekstrak daun andong (*Cordyline fruticosa*) terhadap pertumbuhan bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*.

Berdasarkan pengamatan yang dilakukan menunjukkan bahwa ekstrak daun andong (*Cordyline fruticosa*) terhadap bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* mampu meningkatkan diameter zona hambat bakteri pada konsentrasi 12,5% sebesar 8,49 mm, pada konsentrasi 25% sebesar 10,466 mm, pada konsentrasi 50% sebesar 12,757, dan pada konsentrasi 100% sebanyak 14,357 mm. Kontrol positif *chlorhexidine gluconate* 0,2% menunjukkan rata-rata diameter zona hambat sebesar 14,44 mm, sedangkan pada kontrol negatif dan konsentrasi 6,25% tidak terdapat tidak terdapat zona bening sehingga dapat dikatakan diameter zona hambat yang terbentuk sama dengan diameter sumuran yaitu 6 mm. Sehingga hal ini menunjukkan bahwa ekstrak daun andong (*Cordyline fruticosa*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. Hal ini juga diperkuat oleh penelitian yang dilakukan oleh Bell dalam Suciati (2012), bahwa suatu bahan dikatakan memiliki efek antibakteri apabila diameter zona hambat yang terbentuk sama dengan atau lebih besar dari diameter sumuran yaitu 6 mm.

Kriteria klasifikasi respon hambatan pertumbuhan bakteri menurut David (dalam Ambarwati, 2007) bahwa diameter zona hambat kurang dari 5 mm masuk dalam kriteria kekuatan lemah, 5-10 mm kriteria kekuatan sedang, 10-20 mm kriteria kekuatan kuat, sedangkan lebih dari 20 mm kriteria kekuatan sangat kuat. Berdasarkan klasifikasi tersebut, hasil penelitian pada konsentrasi ekstrak 6,25% dan 12,5% termasuk dalam kriteria respon daya

hambat dengan kekuatan sedang. Selanjutnya pada konsentrasi 25%, 50%, dan 100% termasuk dalam kriteria respon daya hambat dengan kekuatan kuat.

Jika dilakukan perbandingan dengan kontrol positif yang digunakan yaitu *chlorhexidine gluconate* 0,2%, pada konsentrasi ekstrak 100% sekalipun, walaupun berada pada klasifikasi respon daya hambat yang sama yaitu kuat, namun masih terdapat perbedaan 0,083 mm dimana *chlorhexidine gluconate* 0,2% sebesar 14,44 mm dan konsentrasi ekstrak 100% sebesar 14,357 mm. Jika ditelaah lebih lanjut, walaupun diameter zona hambat pada konsentrasi 100% terbesar, namun terjadi penambahan diameter zona yang lebih kecil dibandingkan diameter lainnya. Pada kenaikan konsentrasi 6,25% ke 12,5% terjadi kenaikan diameter zona hambat sebesar 2,49 mm. Pada kenaikan konsentrasi 12,5% ke 25% terjadi kenaikan diameter zona hambat sebesar 1,976 mm. Pada kenaikan konsentrasi 25% ke 50% terjadi kenaikan diameter zona hambat sebesar 2,291 mm. Pada kenaikan konsentrasi 50% ke 100% terjadi kenaikan diameter zona hambat sebesar 1,6 mm. Pada konsentrasi 100% ini memiliki zona hambat terbesar namun tidak lagi mengalami kenaikan yang signifikan dibandingkan konsentrasi sebelumnya.

Fenomena yang sama juga terjadi pada hasil uji zona hambat yang dilakukan oleh Elifah (2010), bahwa diameter zona hambat tidak selalu naik sebanding dengan naiknya konsentrasi antibakteri. Hal ini dapat terjadi karena perbedaan kecepatan difusi senyawa antibakteri pada media agar. Jenis dan konsentrasi senyawa antibakteri yang berbeda memberikan diameter zona hambat yang berbeda pada lama waktu tertentu. Ketidakteraturan besar diameter zona hambat pertumbuhan bakteri uji adalah pada waktu pengeringan sumuran yang tidak sama. Oleh karena itu, menyebabkan zona hambat pada konsentrasi 75% terjadi penurunan. Sumuran yang waktu pengeringannya cukup lama, saat diletakkan diatas media pembenihan bakteri maka luas daerah zona hambatnya kecil, zona ini terbentuk dari ekstrak yang terdifusi dari sumuran ke media agar. Pada sumuran yang waktu pengeringannya hanya sebentar, saat diletakkan diatas media pembenihan bakteri, ekstrak yang masih menempel langsung menyebar disekeliling sumuran dan cepat berdifusi ke media agar sehingga membentuk zona hambat yang lebih besar.

Ditinjau dari senyawa aktifnya, hasil penelitian ini sependapat dengan penelitian yang dilakukan oleh Sinarsih (2016) bahwa adanya kinerja antibakteri yang tidak stabil pada konsentrasi tinggi kemungkinan disebabkan karena senyawa-senyawa metabolit sekunder umumnya memiliki batas kemampuan dalam bioaktivitasnya. Sehingga pada peningkatan konsentrasi tertentu senyawa metabolit sekunder tidak memberikan peningkatan respon yang signifikan atau tidak berbeda nyata. Hal ini juga mungkin berkaitan dengan pelarut etanol yang digunakan dalam ekstrak. Pelarut etanol merupakan pelarut yang memiliki spektrum luas untuk melarutkan senyawa dalam tumbuhan. Sifat tersebut mengakibatkan senyawa polar atau pun nonpolar yang tidak memiliki aktivitas antibakteri ikut terekstraksi. Pada saat tingkat konsentrasi ekstrak etanol daun tinggi, konsentrasi senyawa-senyawa yang tidak memiliki aktivitas antibakteri juga semakin tinggi sehingga menyebabkan laju difusi senyawa aktif menjadi berkurang sehingga kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri juga tidak dapat maksimal.

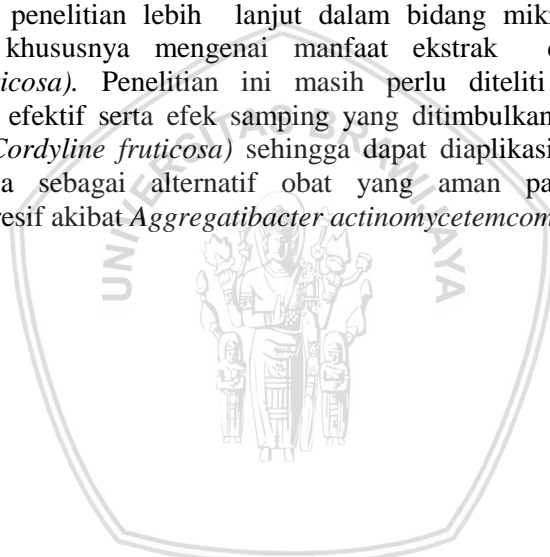
Beberapa senyawa aktif yang terdapat dalam ekstrak daun andong (*Cordyline fruticosa*) memiliki kemampuan sebagai antimikroba, yaitu flavonoid, saponin, serta tanin yang berinteraksi dengan membran sel bakteri. Interaksi ini menyebabkan mengganggu permeabilitas membran dan sintesis dinding sel bakteri hingga terjadi kebocoran plasma serta menyebabkan lisisnya sel bakteri (Zahro dan Dewi IK, 2013; Agustini, 2013; Ahadi, 2003).

Flavonoid yang merupakan kandungan khas tumbuhan hijau memiliki mekanisme kerja yaitu mengganggu sintesis dinding sel bakteri sehingga terjadi kebocoran plasma yang diakhiri dengan lisisnya bakteri. Flavonoid bersifat polar karena mengandung sejumlah hidroksil. Perbedaan kepolaran antara lipid penyusun DNA dengan gugus alkohol pada senyawa flavonoid tersebut akan mengalami lisis dan mati.

Mekanisme kerja saponin yaitu mengganggu permeabilitas membran sel bakteri, yang menyebabkan kerusakan pada membran sel dan mengakibatkan keluarnya berbagai komponen penting dari dalam sel bakteri yaitu protein, asam nukleat dan nukleotida sehingga akhirnya sel bakteri tidak dapat tumbuh dan berkembang.

Mekanisme kerja tanin yaitu mengganggu permeabilitas membran sel bakteri seperti kerja saponin. Hal ini akan menyebabkan pertumbuhan sel bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* menjadi terhambat hingga menyebabkan kematian sel bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*.

Berdasarkan hasil penjelasan tersebut, dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun andong (*Cordyline fruticosa*) mampu berperan sebagai antimikroba dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. Penelitian ini diharapkan bermanfaat sebagai referensi untuk penelitian lebih lanjut dalam bidang mikrobiologi dan periodontologi khususnya mengenai manfaat ekstrak daun andong (*Cordyline fruticosa*). Penelitian ini masih perlu diteliti lebih lanjut mengenai dosis efektif serta efek samping yang ditimbulkan oleh ekstrak daun andong (*Cordyline fruticosa*) sehingga dapat diaplikasikan langsung kepada manusia sebagai alternatif obat yang aman pada penderita periodontitis agresif akibat *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*.



BAB VII

PENUTUP

7.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil dan pembahasan dari penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa :

1. Ekstrak daun andong (*Cordyline fruticosa*) memiliki pengaruh dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* secara *in vitro*.
2. Pada 5 konsentrasi berbeda, semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun andong (*Cordyline fruticosa*) yang diberikan maka semakin besar diameter zona hambat bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*.

7.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian ini, terdapat beberapa saran yang dapat dilakukan pada penelitian selanjutnya, yaitu :

1. Mengetahui efek ekstrak daun andong (*Cordyline fruticosa*) sebagai antimikroba terhadap mikroorganisme lain selain bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*.
2. Mengetahui pengaruh penggunaan pelarut lainnya untuk ekstrak daun andong (*Cordyline fruticosa*) dengan efektivitasnya sebagai antimikroba terhadap *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*.
3. Mengetahui kandungan bahan aktif dalam ekstrak daun andong (*Cordyline fruticosa*) yang memiliki aktivitas antimikroba.
4. Mengetahui pengaruh konsentrasi ekstrak daun andong (*Cordyline fruticosa*) lainnya pada diameter zona hambat bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*.



DAFTAR PUSTAKA

- Aberg CH. 2013. Exotoxin of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* and Periodontal Attachment Loss in Adolescents. Sweden: Print & Media.
- Acharya, T. 2012. *Oxidase Test: Principle, Procedure and Oxidase Positive Organism*.
- Ahadi, M. R. 2003. *Kandungan Tanin Terkondensasi dan Laju Dekomposisi pada Serasah Daun Rhizospora mucronata pada Ekosistem Tambak Tumpangsari, Purwakarta*. Skripsi. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Albandar JM. 2005. Epidemiology of Aggressive Periodontitis in a South Brazilian Population, IADR. J Periodont. Res. 83:255-62.
- Amir, Masyhudi, dkk. 2018. *Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol daun, Kulit Batang dan Getah Angsana (Pterocarpus indicus willd) terhadap Pertumbuhan Streptococcus mutans*. Fakultas Kedokteran Program Studi Kedokteran Gigi Universitas Mulawarman: Odonto Dental Journal.
- Aniszewski, T. 2007. *Alkaloids: Chemistry and Biology*. Amsterdam: Elsevier. pp. 18.
- Annisa, Rizky, Umi Yuniarti, Clara Sunardi. 2012. *Aktivitas Antibakteri Ekstrak dan Fraksi-Fraksi Daun Andong Merah (Cordyline Fruticosa L. A. Cheval) Terhadap Bakteri Penyebab Diare*. Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology.
- Asih, Astri. 2014. *Antihelmintik Infusa Daun Andong (Cordyline Fruticosa) terhadap Ascaridia Galli Secara In Vitro*. S1 thesis, Universitas Atma Jaya.
- Balogopal, S., Arjunkumar, 2013. *Chlorhexidine: The Gold Standard Antiplaque Agent*. Journal of Pharmaceutical Science and Research. Vol. 5(12): 270-274. ISSN:09755-1459

- Bernal P, Santiago CM, Daddaoua A, Llamas MA. 2010. *Antibiotic adjuvants: identification and clinical use*. (Online) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3918149/>).
- Bogoriani, W. 2001. *Isolasi D Totalan Identifikasi Senyawa Saponin dari Daun Andong (Cordyline Terminalis Kunth.) Chemical Review*. 4: 3: 92-7.
- Bogoriani, N.W., Santi, S.R., Astiti Asih, I.A.R., 2007. *Isolasi senyawa sitotoksik dari daun andong (Cordyline terminalis Kunth)*. Jurnal Kimia 1, 1–6.
- Bogoriani, W. 2008. *Isolasi dan Identifikasi Glikosida Steroid dari Daun Andong (Cordyline Terminalis Kunth.) Jurnal Kimia*. 2: 1: 40-4.
- Bogoriani, Wayan. 2015. *Saponin Daun Andong (Cordyline Terminalis Kunth) Menurunkan Kolesterol Plasma dengan Meningkatkan Ekskresi Kolesterol dan Asam Empedu Feses pada Tikus Wistar serta Membentuk Kompleks dengan Kolesterol secara In Vitro*. Disertasi. Program Pascasarjana Universitas Udayana Denpasar.
- Burton GRW, Engelkrik PG. 2004. *Microbiology for Health Science 7th Ed*. Philadelphia: Lipincott-Raven Publishers.
- Christensen, Gordon D, Simpson W, Anglen, Jeffrey O, Gainor, Barry J. 2000. *Handbook of Bacterial Adhesion*. New Jersey: Humana Press Inc.
- Dalimartha, Setiawan, Wijayakusuma, H.M. Hembing. 2006. *Ramuan Tradisional untuk Pengobatan Darah Tinggi*. Jakarta: Penebar Swadaya
- Deaville, E. R., Givens, D. I. dan Harvey, I. M. 2010. *Chesnut and Mimosa tannin silages: Effect in sheep differ for apparent digestibility, nitrogen utilization and losses*. Anim. Feed Sci. Technol. 157: 129-138.
- Depkes RI. (2001). *Inventaris Tanaman Obat Indonesia (I)*. Jilid 2. Jakarta: Departemen Kesehatan RI. Hal. 87-88.
- Niszewski, T. 2007. *Alkaloids: Secrets Of Life*. Amsterdam: Elsevier. Pp. 18.

- Depkes RI. 2014. Hasil Survey Kesehatan Rumah tangga. Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Dewi IK, Joharman, Budarti LY. 2013. *Perbandingan Daya Hambat Ekstrak Etanol dengan Sediaan Sirup Herbal Buah Belimbing Wuluh (Averrhoa bilimbi L.) terhadap Pertumbuhan Shigella dysenteriae In Vitro*. Berkala Kedokteran. Vol 9 (2):191-198.
- Elifah, E. 2010. *Uji Antibakteri Fraksi Aktif Ekstrak Metanol Daun Senggani (Melastoma candidum D.Don) Terhadap Escherichia coli dan Bacillus subtilis serta Pro l Kromatogra Lapis Tipisnya*. (Skripsi tidak dipublikasikan). Surakarta: FMIPA Universitas Negeri Surakarta.
- Fouedjou, Romuald T. 2014. *Steroidial Saponins From The Leaves Of Cordyline Fruticosa (L.) A. Chev. And Their Cytotoxic And Antimicrobial Activity*.
- Franceschi, V. R. dan Nakata, P. A. 2005. *Calcium Oxalate in Plants: Formation and Function*. Annual Review of Plant Biology 56 : 41-71.
- Grupta, R., Chandavarkar, V., Galgali, S., Mishra, M. 2012. Clorhexidine, A Medicine For All The Oral Disease. GJMEDPH. 1(2)
- Gunawan, A. W. I. 2009. *Potensi Buah Pare (Momordica charantia L.) Sebagai Antibakteri Salmonella typhimurium*. Skripsi. Denpasar: Program Studi Pendidikan Biologi, Fakultas keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Mahasaraswati Denpasar.
- Haveles, Elena. 2000. *Delmar's Dental Drug Reference*. Delmar: Virginia
- Henderson B, Wilson M, Sharp L, Ward JM. 2002. *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. Journal Medical Microbiol Vol 51, 1013-1020 ISSN 0022-2615.
- Kachlany S.C. 2010. *Aggregatibacter actinomycetemcomitans Leukotoxin: from Threat to Therapy*. Journal Dental Research Volume 89(6) .

- Kadkhoda, Zeinab, Zeinab Amarlu. 2016. *Antimicrobial Effect of Clhorhexidine on Aggregatibacter actinomycetemcomitans Biofilm Associated with Peri-Implantitis*.
- Kartasapoetra G. 1992. *Budidaya Tanaman Berkhasiat Obat*. Jakarta: Agro Media Pustaka.
- Kharismayanti, Amelia. 2015. *Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Daun Jeruk Nipis (Citrus aurantifolia (Christm. & Panz.) Swingle) Terhadap Porphyromonas gingivalis ATCC 33277 Secara In Vitro*. Jember: Skripsi.
- Kim, S.A. dan Guerinot, M.L. 2007. *Mining Iron: Iron Uptake and Transport in Plants [minireview]*. FEBS Letters 581: 2273–2280.
- Kuete., et al, 2011. Antimicrobial activities of the methanol extract and compound from artocarpus communis (moraceae). *MBC Complementary and Alternative medicine*, 11:12.
- Kumala W. 2006. *Buku Ajar Diagnosis Laboratorium Mikrobiologi Klinik*. Jakarta: Penerbit Universitas Trisakti.
- Leonarto, Melinda Natasha. 2017. *Pengaruh Berkumur Chlorhexidine gluconate 0,2% Terhadap Jumlah Koloni Bakteri Penyebab Plak Pada Pengguna Ortodontik Cekat*. Fakultas kedokteran gigi universitas hasanuddin makassar: skripsi.
- Martinez, B., Ruiz, F. 2005. *Periodontal Disease as Bacterial Infection*. 17(3) : 111-118.
- Matsuura, H. 2001. *Saponins in garlic as modifiers of the risk of cardiovascular disease*. *J. Nutr.* 131:1000S-5S.
- Mythireyi D, Krishnababa MG. 2012. *Aggregatibacter actinomycetemcomitans, an aggressive oral bacteria – a review*. *International Journal of Health Sciences and Research*; 2:105-17.
- Napitupulu, Rodame M., Syamsul H., 2015. *Kitab Tumbuhan Obat*. Jakarta : Agriflo.
- Newman MG, Takey HH, Klokkevold PR, Carranza FA. 2015. *Carranza's Clinical Periodontology*. 12 th ed. St. Louis: Saunders.

- Nield-Gehrig JS, Willmann DE. 2011. *Foundations of periodontics for The Dental Hygienist*. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins.
- Nofianti, Tita. 2016. *Aktivitas Hemostatik Ekstrak Etanol Daun Andong (Cordyline Fruticosa [L.] A.Cheval) Terhadap Mencit Jantan Galur Swiss-Webster*. Jurnal Kimia Vol. 16.
- Notobroto BH. 2005. *Penelitian Eksperimental dalam Materi Praktikum Teknik Sampling dan Penghitungan Besar Sampel Angkatan III*. Surabaya: Lembaga Penelitian Universitas Airlangga.
- Nørskov-Lauritsen N. and Kilian, M. 2006,. "Reclassification of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Haemophilus aphrophilus*, *Haemophilus paraphrophilus* and *Haemophilus segnis* as *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* gen. nov., comb. nov., *Aggregatibacter aphrophilus* comb. nov. and *Aggregatibacter segnis* comb. nov., and emended description of *Aggregatibacter aphrophilus* to include V factor- dependent and V factor-independent isolates". Int J Syst Evol Microbiol., 56(9):2135–46.
- Prychid, C. J., R. S. Jabaily dan P. J. Rudall. 2008. *Cellular Ultrastructure and Crystal Development in Amorphophallus (Araceae)*. Annals of Botany 101 : 983-995.
- Purba, Ritson, dkk. *Uji Bioaktivitas pada Ekstrak Kasar Etanol, Fraksi N-Heksan, Etil Asetat dan Etanol-Air dari Daun Andong (Cordyline Terminalis Kunth)*. Program Studi Kimia Fmipa Universitas Mulawarman
- Purnamasari, ratih Dyah. 2016. *Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Bunga Delima Merah (Punica granatum L.) terhadap Hambatan Pertumbuhan Bakteri Streptococcus mutans (in Vitro)*. Surakarta.
- Puspita, komang yullan. 2014. *Pengaruh Chlorhexidine gluconate 0,12% Terhadap Keberhasilan Perawatan Perimplantitis mucositis*. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Mahasaraswati Denpasar: Skripsi.

Putra, I Wayan Pramana Eka Putra, dkk. *Isolasi dan Identifikasi Senyawa Sitotoksik Daun Nagasari (Calophyllum Nagassarium Burm.F.) terhadap Larva Artemia Salina Leach.*

Reiner, Karen. 2013. *Catalase Test Protocol.*

Roller, S. 2003. *Natural Antimicrobials For The Minimal Processing Of Foods.* Washington DC: CRC Press. Pp. 211.

Rosmelita, D., Prayitno, S. W. 2003. *Efektifitas Pengenceran Chlorhexidine 0,2% 1:1 terhadap Kasus Gingivitis serta Evaluasi Diskolorisasi pada Gigi (penelitian).* J of Kedokteran Gigi Indonesia Ed. Khusus KPPIKG/ FKG UI vol. 10.

Samaranayake LP. 2006. *Essential Microbiology for Dentistry.* London: Churchill Livingstone.

Singh, Surender. 2007. *Pharmacology for Dentistry.* New Delhi: New Age International (P) Limited, Publishers.

Sinarsih, N. K., Rita, W. S., Puspawati, N. M. 2016. *Uji Efektifitas Ekstrak Daun Trembesi (Samanea saman (jacq.) Merr) Sebagai Antibakteri Escherichia coli dan Staphylococcus aureus.*

Siswandono & Soekardjo, B., 2000. *Kimia Medicinal.* Surabaya: UNAIR Press.

Sitanggang, Heryani. 2011. *Karakterisasi Simplisia Dan Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi N-Heksana, Etilasetat Dan Etanol Daun Andong (Cordyline Fruticosa Goepp.) Terhadap Bakteri Escherichia Coli, Shigella Dysenteriae Dan Staphylococcus Aureus.* Skripsi. Fakultas Farmasi Universitas Sumatera Utara: Medan.

Sriraman P, dkk., 2014. *Aggregatibacter Actinomycetemcomitans In periodontal disease.* Research Journal of Pharmaceutical , Biological and Chemical Sciences Volume 5 (2). Hlm 406 – 19.

Stobberingh EE, Croes S, Deurenberg RH, Boumans ML, Beisser PS, Neef C. 2009. *Staphylococcus aureus Formation at The Physiologic Glucose Concentration Depends on the S. Aureus Lineage.* (Online) (<http://www.biomedcentral.com/1471-2180/9/229>).

Sudjatmoko. 2014. *Macam-Macam Media Perbenihan Agar.* Yogyakarta: Kanisius.

- Suciati, A., Wardiyanto, & Sumino. 2012. *Efektifitas Ekstrak Daun Rhizophora mucronata Dalam Menghambat Pertumbuhan Aeromonas salmonicida dan Vibrio harveyi*. Jurnal Rekayasa dan Teknologi Budidaya Perairan.
- Susilowati, A., & Andi, B. 2014. *Pengaruh Getah Tanaman jarak Pagar Jatropha curcas L) Terhadap Daya Hambat Bakteri Staphylococcus aureus Secara In Vitro*. Skripsi. Semarang: Fakultas Peternakan, Universitas Diponegoro.
- Syarif, N., & Panagan, T. A. 2009. *Uji Daya Hambat Asap Cair Hasil Pirolisis Kayu Pelawan (Tristania abavata) Terhadap Bakteri Escherichia coli*. Sumatera Selatan: Universitas Sriwijaya.
- Tjitrosoepomo, Gembong. 2010. *Taksonomi Tumbuhan (Spermatophyta)*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Presss.
- Tortora GJ, Funke BR, Case CL. 2010. *Microbiology an Introduction 10th Ed*. San Fransisco: Pearson Education Inc.
- Zahro, Latifatuz. Agustini, Rudiana. 2013. *Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Kasar Saponin Jamur Tiram Putih (Pleurotus ostreatus) Terhadap Staphylococcus aureus dan Eschericia coli*. UNESA Journal of Chemistry Vol. 2. Departemen Kimia Fakultas Ilmu Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Surabaya. Hal 1-8.
- Zuhra, Cut Fatimah. 2008. *Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavonoid dari Daun Katuk (Sauropus androgunus (L) Merr.)*. Jurnal Biologi Sumatera Vol. 3, No. 1.
- Zustinah AK. 2013. *Khasiat dan Manfaat Daun Teh Pilihan*. Jakarta: Agro Media Pustaka.

